

## Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan - Bagian 1: Metode konvensional



© BSN 2015

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar Isi

Daftar Isi .....	i
Prakata .....	ii
1 Ruang lingkup .....	1
2 Istilah dan definisi .....	1
3 Prinsip umum .....	2
4 Peralatan.....	2
5 Bahan.....	2
6 Prosedur .....	3
7 Interpretasi hasil.....	6
Lampiran A (normatif) Pembuatan antiseptik .....	7
Lampiran B (normatif) Persiapan darah domba.....	9
Lampiran C (normatif) Pembuatan media.....	10
Lampiran D (normatif) Pembuatan pereaksi.....	13
Bibliografi .....	14
Tabel 1 Pembacaan hasil uji oksidatif-fermentatif .....	5
Tabel 2 Kriteria bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	6
Lampiran A (informatif) Contoh gambar penggolongan sifat hemolitik.....	7
Lampiran B (normatif) Pembuatan antiseptik .....	8
Lampiran C (normatif) Contoh persiapan darah domba sebagai media darah.....	9
Lampiran D (normatif) Contoh pembuatan media .....	10
Lampiran E (normatif) Contoh pembuatan pereaksi.....	13



## Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas dan jaminan mutu komoditas perikanan budidaya serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian di laboratorium acuan dan uji maka perlu disusun suatu Rancangan Standar Nasional Indonesia (RSNI) tentang Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan - Bagian 1: Metode konvensional.

Standar ini merupakan revisi dari **SNI 7303:2009**, tentang metode identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* secara biokimia. Perubahan pada standar ini dibandingkan dengan SNI sebelumnya meliputi penambahan metode pada uji karakter fisik, uji Gram dan uji motilitas.

SNI ini dirumuskan oleh Panitia Teknis (PT) 65-07 Perikanan Budidaya dan dibahas pada rapat konsensus pada tanggal 23 - 25 Juni 2014 di Bogor yang dihadiri oleh anggota panitia teknis, unsur pemerintah, lembaga penelitian dan instansi terkait lainnya dengan memperhatikan:

1. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
2. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. PER.19/Men/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Pangan.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke wilayah Republik Indonesia.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.
6. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. KEP. 26/MEN/2013 tentang penetapan jenis – jenis Hama dan Penyakit Ikan Karantina (HPIK), Golongan, Media Pembawa, dan sebarannya.

Standar ini telah dilakukan jajak pendapat pada tanggal 30 Agustus 2014 sampai dengan 29 Oktober 2014 dengan hasil akhir RASNI.



## Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan - Bagian 1: Metode konvensional

### 1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan prosedur identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* secara konvensional.

### 2 Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan dalam dokumen ini, istilah dan definisi berikut digunakan :

#### 2.1

##### **contoh ikan**

sejumlah kecil dari suatu populasi ikan yang digunakan untuk pemeriksaan dan memenuhi persyaratan secara statistika

#### 2.2

##### **Gram negatif**

hasil uji Gram yang ditandai dengan terbentuknya lendir pada suspensi bakteri dengan KOH 3% dan berwarna merah muda pada perwarnaan Gram

#### 2.3

##### **Gram positif**

hasil uji Gram yang ditandai dengan tidak terbentuknya lendir pada suspensi bakteri dengan KOH 3% dan berwarna ungu pada perwarnaan Gram

#### 2.4

##### **isolasi**

pemisahan bakteri dari organ target dari ikan dengan menumbuhkan pada media agar

#### 2.5

##### **inkubasi**

pengkondisian bakteri pada media, suhu dan waktu tertentu

#### 2.6

##### **inokulasi**

menumbuhkan bakteri pada media kultur

#### 2.7

##### **isolat murni**

bakteri hasil pemurnian dari koloni yang terpisah

#### 2.8

##### **media agar darah**

media agar yang diperkaya dengan darah untuk melihat sifat hemolitik bakteri

#### 2.9

##### **teknik aseptis**

teknik yang dilakukan untuk mencegah masuknya mikroorganisme kontaminan ke dalam biakan murni, melalui aliran udara, kontak tangan yang tidak steril atau melalui tersentuhnya media atau permukaan tabung bagian dalam oleh benda yang belum steril



## 2.10

### uji tetes gantung

uji yang dilakukan untuk melihat motilitas bakteri

## 3 Prinsip umum

Mengisolasi dan memurnikan bakteri pada media umum dilanjutkan dengan mengidentifikasi secara fisik, morfologi dan biokimia.

## 4 Peralatan

- a) autoklaf;
- b) bunsen;
- c) botol semprot;
- d) cawan petri;
- e) gelas objek (datar dan cekung tengah);
- f) gelas penutup;
- g) inkubator;
- h) jarum Ose (logam dan nonlogam);
- i) *laminar air flow cabinet*;
- j) labu Erlenmeyer;
- k) meja bedah;
- l) mikroskop;
- m) mortar;
- n) *mini mixer*;
- o) oven;
- p) peralatan bedah;
- q) pengukur pH;
- r) penangas air (*waterbath*);
- s) pipet Pasteur;
- t) rak tabung reaksi;
- u) refrigerator;
- v) tabung reaksi;
- w) timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 g.

## 5 Bahan

- a) aluminium foil;
- b) alkohol absolut;
- c) alkohol 70 %;
- d) akuades;
- e) *blood base media*;
- f) darah domba;
- g) glukosa;
- h) iodin kristal;
- i) kertas saring;
- j) kalium iodida;
- k) kapas;
- l) larutan *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride* 1 % dalam akuades (*reagen oksidase*);
- m) media *sulphide indole motility* (SIM);



- n) media umum (*trypticase soy agar/TSA, trypticase soy broth/TSB*);
- o) natrium klorida (NaCl);
- p) *O/F basal medium*;
- q) parafin cair steril;
- r) *Rimler - Shotts* (RS) medium;
- s) *tryptone water media*;
- t) vaselin.

## 6 Prosedur

### 6.1 Preparasi contoh uji

#### 6.1.1 Ikan besar

- a) matikan ikan sesuai prosedur *fish welfare*;
- b) bersihkan permukaan tubuh ikan dengan kapas yang telah dibasahi iodine 2 % atau antiseptik lain;
- c) jika terdapat luka pada permukaan tubuh, panaskan spatula/pisau bedah hingga pijar dan tempelkan pada luka tersebut, kemudian siap dilakukan isolasi;
- d) bedah ikan menggunakan peralatan bedah steril, ambil organ target (hati, ginjal, limpa), dan sterilkan permukaannya dengan iodine 2% dan tempelkan permukaan organ dengan spatula/pisau bedah panas, kemudian siap dilakukan isolasi. isolasi dapat juga dilakukan dari contoh darah.

#### 6.1.2 Ikan kecil dan telur

Celupkan contoh uji dalam iodine 2% atau antiseptik lain, bilas dengan akuades steril kemudian ikan kecil atau telur digerus, contoh siap untuk diisolasi.

### 6.2 Isolasi bakteri

- a) bersihkan permukaan meja kerja/*clean bench* dengan alkohol 70%;
- b) iris luka/organ target secara aseptis kemudian tusukkan jarum Ose steril ke bagian dalam luka dan goreskan pada media agar darah, atau gerus ikan kecil dan telur secara aseptis, kemudian ambil hasil gerusan dengan jarum Ose steril dan goreskan pada media agar darah;
- c) inkubasikan pada 25 °C - 28 °C selama 18 jam - 24 jam.

### 6.3 Pemurnian koloni

- a) ambil koloni terpisah yang bersifat  $\beta$ -hemolitik dan goreskan pada media TSA untuk dimurnikan (Lampiran A);
- b) inkubasikan pada 25 °C - 28 °C selama 18 jam - 24 jam;
- c) apabila hasil pemurniannya diperoleh koloni yang seragam maka diteruskan dengan uji lanjutan.

### 6.4 Karakterisasi fisik, morfologi, dan biokimia

Siapkan isolat yang telah berumur 12 jam - 24 jam.

#### 6.4.1 Karakter fisik

##### 6.4.1.1 Toleransi terhadap suhu inkubasi



- a) siapkan media TSA steril dalam cawan petri;
- b) ambil isolat dengan jarum Ose steril, inokulasikan pada 3 cawan petri berisi TSA;
- c) inkubasikan masing-masing pada 4 °C, 37 °C dan 50 °C selama 24 jam;
- d) amati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri.

#### 6.4.1.2 Toleransi terhadap pH media

- a) siapkan media TSB dengan pH 3, 5, 9 dan 11;
- b) ambil isolat dengan jarum Ose steril, inokulasikan pada masing-masing media TSB;
- c) inkubasikan pada 28 °C selama 24 jam, bersamaan dengan media TSB tanpa inokulasi bakteri sebagai kontrol;
- d) amati ada tidaknya pertumbuhan bakteri (apabila tidak ada kekeruhan dilanjutkan dengan penanaman pada media TSA).

#### 6.4.1.3 Toleransi terhadap konsentrasi NaCl dalam media

- a) siapkan media TSA dengan kandungan NaCl sebanyak 0,5%, 3% dan 5%;
- b) ambil isolat dengan jarum Ose steril, inokulasikan pada masing-masing media TSA;
- c) inkubasikan masing-masing pada 28 °C selama 24 jam, bersamaan dengan media TSA tanpa penambahan NaCl, dan tanpa inokulasi bakteri sebagai kontrol;
- d) amati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri.

#### 6.4.2 Uji pewarnaan Gram dan morfologi

- a) siapkan gelas objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan diberi label;
- b) teteskan 1 tetes akuades steril menggunakan pipet Pasteur pada permukaan gelas objek;
- c) ambil isolat dengan jarum Ose steril, campur dengan akuades dan diulas merata pada permukaan gelas objek;
- d) fiksasikan dengan melewati preparat di atas api (jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering;
- e) teteskan larutan *crystal violet* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit;
- f) cuci dengan air mengalir;
- g) teteskan larutan *iodine lugol* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit;
- h) cuci dengan air mengalir;
- i) teteskan larutan alkohol *aseton* pada preparat sampai merata dan diamkan maksimal 30 detik;
- j) cuci preparat dengan air mengalir dan keringanginkan;
- k) teteskan larutan *safranin* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit;
- l) cuci dengan air mengalir;
- m) amati preparat menggunakan mikroskop, catat warna serta bentuk sel bakteri;
- n) sifat bakteri *Gram* negatif ditandai dengan sel bakteri berwarna merah/pink. sedangkan *Gram* positif berwarna ungu;
- o) *Aeromonas hydrophilla* merupakan bakteri *Gram* negatif dengan bentuk batang pendek..

#### 6.4.3 Uji Gram dengan KOH

- a) siapkan gelas obyek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan diberi label;
- b) ambil isolat dengan jarum Ose steril, letakkan pada permukaan gelas obyek;
- c) tambahkan 1 tetes KOH 3% dan homogenkan;
- d) *Gram* negatif ditunjukkan dengan terbentuknya lendir pada campuran tersebut saat ditarik dengan jarum Ose steril, sedangkan *Gram* positif tidak membentuk lendir.



#### 6.4.4 Uji motilitas (pergerakan)

Uji motilitas dapat dilakukan dengan uji tetes gantung atau uji dengan media SIM.

##### 6.4.4.1 Uji tetes gantung

- ambil isolat dengan jarum Ose steril, dan inokulasikan pada *tryptone water*;
- inkubasikan pada 25 °C - 28 °C selama 24 jam;
- siapkan gelas penutup, beri vaselin pada keempat sudutnya sebagai perekat;
- teteskan biakan yang berumur 24 jam tepat dibagian tengah gelas penutup;
- rekatkan gelas obyek cekung tengah pada gelas penutup dengan posisi tetesan bakteri tepat dibagian tengah cekungan;
- balikkan gelas obyek cekung tengah dan segera amati dibawah mikroskop perbesaran 1000 x;
- amati motilitas bakteri.

##### 6.4.4.2 Uji dengan media SIM

- ambil isolat dengan jarum Ose lurus;
- inokulasikan pada media semisolid (SIM agar atau MIO agar) dengan cara ditusukkan kedalam media;
- inkubasikan pada 25 °C - 28 °C selama 18 jam - 24 jam;
- reaksi positif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media di sekitar bekas tusukan.

#### 6.4.5 Uji oksidase

- basahi kertas saring dengan pereaksi oksidase;
- ambil 1 *loop* isolat bakteri, goreskan dengan jarum Ose nonlogam steril pada kertas saring yang sudah dibasahi pereaksi oksidase;
- reaksi oksidase positif ditandai munculnya warna biru keunguan pada goresan.

#### 6.4.6 Uji oksidatif-fermentatif

- inokulasikan isolat bakteri ke dalam 2 tabung yang berisi media O/F dengan cara ditusukkan;
- masukkan parafin cair steril setinggi 0,5 cm – 1 cm ke dalam salah satu tabung;
- inkubasikan pada 25 °C – 28 °C selama 12 jam - 24 jam;
- amati perubahan warna yang terbentuk. Pembacaan hasil pengujian tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1 Pembacaan hasil uji oksidatif - fermentatif**

Hasil Uji	Warna media dalam tabung	
	dengan parafin	tanpa parafin
Oksidatif (O)	Hijau	Kuning
Fermentatif (F)	Kuning	Kuning
Alkalin (Alk)	Hijau	Biru (bagian atas)
Tanpa reaksi (NR)	Hijau (pertumbuhan lambat)	
Tidak tumbuh (NG)	Hijau (tidak terdapat pertumbuhan)	

#### 6.4.7 Uji Rimler - Shotts (RS)

- ambil isolat bakteri dengan jarum Ose steril dan goreskan pada media RS;



- b) inkubasikan pada 37 °C selama 18 jam - 24 jam;  
 c) amati koloni yang tumbuh, apabila berwarna kuning tanpa warna hitam di tengah koloni berarti positif *Aeromonas hydrophila*.

## 7 Interpretasi hasil

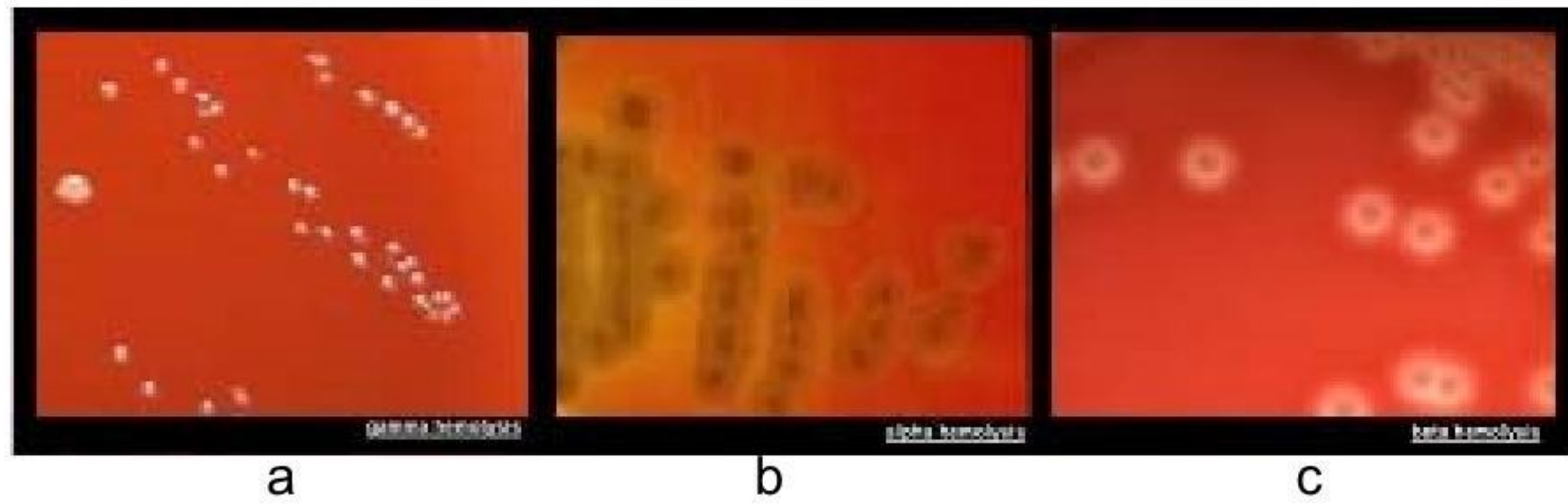
Bakteri dinyatakan sebagai *Aeromonas hydrophila* apabila memenuhi karakteristik seperti pada Tabel 2.

**Tabel 2 Karakteristik bakteri *Aeromonas hydrophila***

Parameter uji	Hasil reaksi
Sifat hemolitik	β
Toleransi terhadap suhu inkubasi : a. 4 °C b. 37 °C c. 50 °C	Positif Positif Negatif
Toleransi terhadap pH media : a. pH 3 b. pH 5 c. pH 9 d. pH 11	Negatif Positif Positif Negatif
Toleransi terhadap konsentrasi NaCl dalam media a. 0,5% b. 3% c. 5%.	Positif Positif Negatif
Uji pewarnaan Gram dan morfologi	Gram negatif, bentuk batang pendek
Uji Gram (KOH 3%)	Negatif
Uji motilitas	Motil
Uji oksidase	Positif
Uji Oksidatif-Fermentatif	Fermentatif
Uji RS	Positif



**Lampiran A**  
(informatif)  
**Contoh gambar penggolongan sifat hemolitik**



**Keterangan gambar :**

- a.  $\gamma$  hemolisis
- b.  $\alpha$  hemolisis
- c.  $\beta$  hemolisis

**Gambar A.1 - Penggolongan sifat hemolitik bakteri pada media agar darah**



**Lampiran B**  
(normatif)  
**Pembuatan antiseptik**

**B.1 Pembuatan Iodine 2%**

Iodin Kristal	2 g
Kalium Iodida	$\pm 1,5$ g
Alkohol/ethanol	$\pm 10$ ml - 15 ml

Cara membuat :

- a) campurkan bahan diatas sampai larut.
- b) tambahkan akuades hingga mencapai volume 100 ml.
- c) masukkan dalam botol gelap, simpan dalam suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$ ).
- d) jika warna larutan iodin 2% menjadi bening, larutan ini harus diganti baru.





**Lampiran C**  
(informatif)  
**Contoh persiapan darah domba sebagai media darah**

**C.1 Persiapan defibrinator**

- a) siapkan defibrinator dengan cara memasukkan 60 butir mutiara kaca ke dalam labu ukur (dasar labu ukur berbentuk bulat).
- b) sterilisasi defibrinator pada 121 °C selama 15 menit, kemudian keringkan dalam oven pada 60 °C selama 1 jam

**C.2 Pembuatan antikoagulan *alserver citrat***

Bahan :

Tri sodium citrate	2,2 g
Dextrose	1,8 g
Akuades	75 ml

Cara membuat:

- a) *Tri-sodium citrate* sebanyak 2,2 g dan dextrosa sebanyak 1,8 g dilarutkan dalam akuades dengan volume akhir 75 ml.
- b) Larutan disterilisasi pada 110 °C -115 °C atau dapat juga dididihkan dengan *hotplate* sampai berwarna kekuningan (larutan tidak boleh sampai berwarna coklat). Setiap 1 ml *alserver* digunakan untuk darah domba sebanyak 4 ml.

**C.3 Preparasi dan pengambilan darah domba**

- a) Ulaskan antiseptik ke pembuluh darah di bagian leher domba, sambil ditekan bagian bawah pembuluh tersebut
- b) tusukkan jarum suntik 10 ml yang telah diisi 2 ml *alserver citrat*, dengan posisi lubang jarum dibagian bawah.
- c) ambil darah domba hingga mencapai volume 10 ml didalam jarum suntik.
- d) homogenkan dalam jarum suntik.
- e) darah siap digunakan, atau simpan dalam refrigerator 4 °C untuk penyimpanan.
- f) preparasi darah dapat pula dilakukan tanpa antikoagulan.
- g) ambil darah domba sebanyak 10 ml menggunakan jarum suntik.
- h) masukkan dengan segera ke dalam defibrinator.
- i) Putar defibrinator satu arah secara perlahan (arah putaran tidak boleh bolak balik) selama 20 menit.
- j) darah siap digunakan, atau simpan dalam refrigerator 4 °C untuk penyimpanan.



**Lampiran D**  
(informatif)  
**Contoh pembuatan media**

**D.1 Media Agar Darah**

Bahan :

<i>Blood agar base</i>	8 g
Darah domba	10 ml
Akuades	182 ml

Cara membuat:

- larutkan *blood agar base* dalam akuades.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm.
- dinginkan media dalam *waterbath* hingga bersuhu 45 °C – 50 °C.
- masukkan darah domba steril ke dalam media sambil dihomogenkan.
- homogenkan media secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung.
- setelah homogen, tuang media ke dalam cawan petri.

**D.2 *Trypticase (tryptic) soy agar***

Bahan :

TSA komersial	40 g
Akuades	960 ml

Cara membuat:

- larutkan TSA dalam akuades.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm.
- jika menggunakan media komersial lainnya, pembuatan media ini mengikuti petunjuk pada media tersebut.

**D.3 Media *Trypton Water* komersial**

Cara membuat:

- campurkan 15 g *tryptone water* dengan 85 ml akuades
- pipet 3 ml - 5 ml ke dalam tabung.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm

**D.4 Media O/F komersial**

Cara membuat:

- campurkan 9,4 g O/F basal medium dengan 90,6 ml akuades.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm.
- tambahkan 1 % glukosa.
- pipet 3 ml ke dalam tabung.



e) panaskan dalam *waterbath* hingga mendidih selama 30 menit.

#### D.5 Media SIM komersial

Cara membuat:

- campurkan 30 g *sulfide indole motility* (SIM) dengan 970 ml akuades.
- Pipet 3 ml - 5 ml ke dalam tabung.
- Sterilisasi pada suhu 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm

#### D.6 Media pengujian pH

Bahan :

TSB komersial	1,5 g
Akuades	48,5 ml
HCl 1 N	10 ml
NaOH 1 N	10 ml

Cara membuat:

- larutkan TSB dalam akuades.
- ukur pH media, untuk pH 3 dan 5, teteskan HCl hingga mencapai pH yang diinginkan
- untuk pH 9 dan 11, teteskan NaOH hingga mencapai pH yang diinginkan
- pipet 3 ml - 5 ml ke dalam tabung.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm

#### D.7 Media uji pertumbuhan pada kandungan NaCl yang berbeda

##### D.7.1 NaCl 0,5%

Bahan :

TSA komersial	4 g (sudah mengandung 0,5% NaCl)
Akuades	96 ml

Cara membuat:

- larutkan bahan diatas dengan akuades.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm.
- jika menggunakan media komersial lainnya, perhatikan kandungan NaCl pada media tersebut.

##### D.7.2 NaCl 3%

Bahan :

TSA komersial	4 g
NaCl	2,5 g
Akuades	93,5 ml

Cara membuat:

- larutkan bahan diatas dengan akuades.
- sterilisasi pada 121 °C selama 15 menit, tekanan 1 atm.



- c) jika menggunakan media komersial lainnya, perhatikan kandungan NaCl pada media tersebut.

#### D.7.3 NaCl 5%

Bahan :

TSA komersial	4 g
NaCl	4,5 g
Akuades	91,5 ml

Cara membuat:

- larutkan bahan diatas dengan akuades.
- sterilisasi pada 121 °C, selama 15 menit, tekanan 1 atm.
- jika menggunakan media komersial lainnya, perhatikan kandungan NaCl pada media tersebut.

#### D.8 Media RS

Bahan :

<i>L-lysine hydrochloride</i>	5.0 g
<i>L-ornithine hydrochloride</i>	6.5 g
<i>L-cysteine hydrochloride</i>	0.3 g
Maltose	3.5 g
Sodium thiosulphate	6.8 g
Ferric ammonium citrate	0.8 g
Sodium deoxycholate	1.0 g
Sodium chloride	5.0 g
Yeast extract	3.0 g
Novobiocin	0.005 g
Bromothymol blue	0.03 g
Agar	13.5 g

Cara membuat:

- campurkan bahan di atas dan larutkan dalam 1 l akuades dengan *stirring*;
- atur keasaman pH 7 dan didihkan selama 1 menit.
- jika menggunakan media komersial, pembuatan media ini mengikuti petunjuk pada media tersebut.



**Lampiran E**  
(informatif)  
**Contoh pembuatan pereaksi**

**E.1 KOH 3%**

Bahan:

Potasium hidroksida / Kalium hidroksida (KOH)	0,3 g
Akuades	9,7 ml

Cara membuat :

- a) larutkan Potasium hidroksida / Kalium hidroksida (*KOH*) ke dalam akuades.
- b) simpan dalam refrigerator 4 °C.
- c) Ganti pereaksi dengan yang baru bila terbentuk endapan pada larutan.

**E.2 Larutan oksidase**

Bahan:

<i>Tetramethy-p-phenylenediamine dihydrochloride</i>	1 ml
Akuades	99 ml

Cara membuat :

- a) larutkan *tetramethy-p-phenylenediamine dihydrochloride* ke dalam akuades.
- b) simpan dalam refrigerator 4 °C.
- c) ganti pereaksi dengan yang baru bila terjadi perubahan warna larutan.



## Bibliografi

- Cappuccino, J.G., and N. Sherman 2005. *Microbiology : A Laboratory Manual*. 7<sup>th</sup> Edition. State University of New York. Pearson Publication, Inc.
- Cowan, S.T., K.J.Steel, , G.I. Barrow,., and R.K.A. Feltham, 1993. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3<sup>rd</sup> Edition. Cambridge University Press.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Jayavignesh V., K.S. Kannan and A.D. Bhat. 2011. *Biochemical characterization and cytotoxicity of the Aeromonas hydrophila isolated form Catfish*. Scholars Research Library. Archives of Applied Science Research 3 (3):85-93.
- Mac Faddin J F., , 1980. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 2<sup>nd</sup> Edition. Waverly Press, Inc.
- Palumbo, SA., D.R. Morgan, and R.L. Buchanan. 1985. *Influence of Temperature, NaCl, and pH on the growth of Aeromonas hydrophila*. Journal of Food Science Volume 50.

